

尿微量蛋白检测对移植后肾功能的诊断价值

施倩倩 综述, 徐海燕 审校

(江苏省常州市第一人民医院泌尿外科实验室 213003)

关键词: 蛋白尿; 肾移植; 肾功能实验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)01-0078-03

肾移植已成为治疗终末期肾病的有效方法, 移植后肾功能的恢复直接影响到肾移植的成功与否, 如果能找到 1 个及早预测肾功能的诊断指标, 对于指导临床用药、提高肾移植患者的存活率及生活质量都有极其重要的意义。穿刺病理活检是了解移植后肾功能的“金标准”, 但这种创伤性的检测方法反复动态操作困难, 未能在临床上推广应用。临床上一直沿用血肌酐(creatinine, Cr)、血尿素氮(BUN)来判断移植后肾功能。当肾功能轻度受损时, BUN 可无变化, 当 BUN 高于正常时, 表明有效肾单位已有 60%~70% 受到损害, 而当肾小球滤过功能下降到正常的 1/3 时, Scr 才明显上升, 这对需要及早发现损害并进行处理的移植患者来说极其不利^[1]。当肾小管受损时, 尿中低相对分子质量蛋白排泄量增大。移植后肾功能急性排斥反应是导致早期肾移植失败的主要原因之一, 这个过程由渗透入移植组织间隙的激活淋巴细胞介导, 首先损害肾小管连接组织、基底膜和肾小管上皮细胞。若能及早发现肾小管功能改变, 移植后肾功能异常便可以早期发现, 为临床治疗争取时间。近年来研究发现, 尿微球蛋白(β_2 -微球蛋白、 α_1 -微球蛋白、视黄醇结合蛋白、半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C) 在肾小管损伤后可以立刻被检测出来, 以下分别予以介绍^[2]。

1 β_2 -微球蛋白

β_2 -微球蛋白(β_2 -microglobulin, β_2 -MG) 是由 100 个氨基酸组成的小分子单链多肽, 处于红细胞与胎盘滋养细胞外, 存在于所有正常有核细胞与肿瘤细胞表面, 淋巴细胞与单核细胞表面尤为丰富。近端肾小管是 β_2 -MG 在体内处理的唯一场所, 当近端肾小管轻度受损时, 尿 β_2 -MG 明显增加, 而且尿 β_2 -MG 与肾小管重吸收率呈正相关(当肾小管净重吸收率减少 1%, 尿 β_2 -MG 排出量可增加 30 倍左右), 因此, 测定尿 β_2 -MG 是诊断近端肾小管受损的敏感性和特异性方法。肾移植后发生排斥时, 由于肾功能下降, 加上排斥引起的炎症反应刺激宿主的淋巴细胞, 而使 β_2 -MG 合成增加, 因此尿 β_2 -MG 对早期识别排斥反应提供了 1 项有价值的辅助诊断指标, 无排斥或偶有轻度排斥反应的肾移植患者尿 β_2 -MG 水平不高; 有排斥反应者, 在排斥期前 1~7 d 就可见尿 β_2 -MG 水平明显升高。但是, 由于免疫抑制剂可影响 β_2 -MG 的合成, 在采用此类抑制剂控制急性排斥时, 对 β_2 -MG 变化的意义就难以评价。

2 α_1 -微球蛋白

α_1 -微球蛋白(α_1 -microglobuline, α_1 -MG) 由肝脏合成, 是 1 种浅褐色的低分子蛋白, 它广泛分布于人体组织液中。正常情况下, 99.9% 的滤过 α_1 -MG 被重吸收, 仅有微量排出体外。 α_1 -MG 不是 1 种急性时相蛋白, 在正常生理情况下是稳定的, 能用免疫法测定而用于临床。当近端肾小管功能受损时, 重吸收效率降低而使尿中 α_1 -MG 排泄量急剧增加; 当重吸收率从 99.95% 下降到 99.85% 就可使其排泄量增加 3 倍, 因此, α_1 -MG 被认为是肾小管功能损害的敏感指标^[3]。肾移植排斥反

应时, 肾小管急性坏死, 导致尿液中 α_1 -MG 水平升高, Kusano 等研究证明, 当内生肌酐清除率还在正常范围时, 肾损害患者尿液中 α_1 -MG 水平已有较明显升高。代香元和王艳梅^[4]也报道, α_1 -MG 是肾小管早期损害的首选指标。李智刚等把肾移植患者分成肾功能稳定组(A 组)和急性排斥组(B 组), 对其早期进行尿 α_1 -MG 水平测定, 发现 B 组患者于肌酐升高前平均 2.88 d 即可观察到尿 α_1 -MG/Cr 明显升高, 说明早在临床诊断急性排斥前已有尿 α_1 -MG 变化; 同时, 对尿 α_1 -MG/Cr 持续下降者近期不出现急性排斥反应的预测价值为 97.4%, 其敏感性为 84.4%, 特异性为 86.7%。马雪平等^[5]为了早期诊断移植肾损伤, 对 18 例肾移植患者进行了尿微量清蛋白(Alb)、尿 IgG 和尿 α_1 -MG 3 个指标联检, 对肾移植患者术前及术后 1、4 周分别取晨尿 5 mL, 同时测血肌酐值。术后 1、4 周比较, Scr 的水平差异无统计学意义($P>0.05$), 而 Alb 的差异有统计学意义($P<0.05$)。众多研究证明, 尿 α_1 -MG 升高是反映各种原因包括肾移植后排斥反应所致早期近端肾小管功能损伤的特异且敏感的指标。

3 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C

半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cys C) 由 120 个氨基酸组成, 是胱氨酸蛋白酶抑制剂这一蛋白质大家族的成员之一, 又称胱抑素。尿中 Cys C 增多在 1961 年首先发现于慢性肾功能衰竭的患者, 近年来研究发现肾功能轻度下降时尿中 Cys C 就已升高, 可反映近曲肾小管功能的损伤。Cys C 几乎完全被肾小球滤过, 然后被肾小管吸收, 紧接着被降解, 不会重新进入循环^[6]。从理论上可以推测, 如果肾小管发生病变, 其分解 Cys C 能力减弱, 势必会观察到尿中排出的 Cys C 增加^[7]。这个推测被 Conti 等证实, 其分别测定了 52 例肾小管疾病患者、47 例肾小球疾病患者和 60 例健康对照者尿中 Cys C 的水平, 发现肾小管疾病患者尿中的 Cys C 水平明显升高, 与健康对照组比较差异有统计学意义[(4.31±3.85)mg/L vs (0.096±0.044)mg/L; $P<0.0001$], 与肾小球疾病组比较差异有统计学意义[(4.31±3.85)mg/L vs (0.106±0.133)mg/L; $P<0.0001$], 从而证明了尿中 Cys C 水平诊断肾小管功能不全的重要意义。Cys C 是 1 个简单、灵敏的衡量所有肾功能的指标。Uchida 等研究尿 Cys C 和 Cr 的动力学时发现, 尿 Cys C 水平不受肌肉、年龄的影响, 在没有肾小管细胞损伤的持续蛋白尿患者中, 尿 Cys C 水平和 Cr 密切相关。当 Cys C/Cr 比值在正常范围内时, 尿 Cys C 水平能准确地反映肾小球滤过功能。Hellerstein 等使用 ROC 曲线, 将尿 Cys C/Cr 的比值与 GFR 进行比较, 数据显示尿 Cys C/Cr×100≥0.100, 对 GFR≤60 mL/min 的儿童具有 90% 的敏感性, 假阳性 16.1%, 尿 Cys C/Cr 是可靠的检测且不断减小 GFR 的筛选手段。但是 Herget-Rosenthal 等^[8]却发现 Ucys C/Ucrea≥11.3 mg/mmol 不是 1 个准确的标志去检出肾小球滤过率小于或等于 60 mL/min·1.73 m²,

却能很好反映肾小管功能异常和肾小管间质疾病引起的蛋白尿。有报道依据肾小球功能受损致尿中转铁蛋白水平增高,而尿中较高水平的转铁蛋白有助于尿 Cys C 的稳定,故提出尿 Cys C 更适合于肾小球功能损伤的肾脏疾病中肾小管功能情况的评价^[9]。有学者通过对 11 例健康成人在 24 h 内每 2 h 分析尿样的研究显示,尿 Cys C 水平 1 d 中无明显周期性变化($P > 0.05$),因此推断,如果肾小管功能正常,尿液中只会少量 Cys C,因而仅凭 1 次尿样检测尿 Cys C 水平变化就可以评定近曲肾小管功能,尤其可以反映急性肾小管功能受损。随着肾小球滤过率的逐渐下降,尿中 Cys C 逐渐上升,两者有着显著的相关性。通过动态观察尿 Cys C 水平的变化,可以间接了解肾小球滤过率和直接了解肾小管受损情况,并判断病情轻重、疗效及评估预后。

4 视黄醇结合蛋白

视黄醇结合蛋白(retinol-binding protein, RBP)主要由肝细胞的粗面内质网合成,穿过滑面内质网到达高尔基复合体表面。在肝内与视黄醇 1:1 结合后释放入血。体内 90% 的 RBP 与视黄醇结合,形成视黄醇-RBP 复合物,10% 未结合的 RBP 可自由从肾小球滤过而进入原尿,在近端肾小管几乎被全部重吸收而分解,故健康者尿中排出的 RBP 水平甚微。可见,与健康人群相比,糖尿病肾病患者的 RBP 排泄量呈有意义的升高,故 RBP 可作为肾小管损伤或功能障碍准确而可靠的标志物。也有实验证明,由内皮细胞损伤和肾小球血管病变时近曲肾小管损伤所介导的早期肾小管病变,可能不减少肾小管对清蛋白等大分子的重吸收,但可能减少肾小管对 RBP 等小分子量蛋白的重吸收^[10]。尿 RBP 异常升高提示在病理上出现肾小管间质的形态学改变,且随着形态学变化的严重程度加重,尿 RBP 升高的发生率亦明显增加。当临床尚无临床症状且常规肾功能检查又无明显改变时,用 RBP/Cr 评价肾小球及近端肾小管功能有重要意义^[11]。有学者对 225 例不同肾脏疾病患儿尿 RBP 的检测结果表明,尿 RBP 可以敏感、准确地反映肾小管功能,并与肾脏病变有关,随着病情的好转,尿 RBP 也逐渐降低并恢复至正常水平。尿 RBP 作为 1 项敏感的肾近曲小管损伤的早期诊断指标,不仅对肾脏损伤的早期诊断有重要价值,而且还可以用于肾脏损坏的动态监测,与其他项目联合检查能为肾脏损害部位及程度提供更准确的鉴别诊断依据^[12]。同时,尿 RBP 可以作为肾移植早期肾功能发生障碍的替代指标,指导临床早期干预治疗,延长移植物存活时间。

在测定尿微量蛋白时,其标本保存和检测方法的选用对实验结果也有影响。标本必须新鲜,变质的尿液 pH 值发生变化,影响尿蛋白的检测结果。尿 RBP 和 β_2 -MG 可随 pH 值的降低和温度的升高而降解,在 pH 值为 5.5 时 β_2 -MG 即开始迅速降解^[13]。尿液留取后若不能在 2 h 内进行检测,需置于 4 °C 冰箱中冷藏,既可维持较恒定的弱酸性也可防止一般细菌生长,在测定尿蛋白之前加入甲苯,每升尿中加入 5 mL。

目前国内常用测定尿蛋白的方法是干化学试剂法、磺基水杨酸法、加热醋酸法等,这些定性或半定量的方法灵敏度偏低,检测结果常显示假阴性,使很多具有重要临床意义的尿蛋白亚临床升高者漏诊。放射免疫测定法灵敏度较高,但需注意尿量的收集和处理,试剂盒使用有效期短,步骤繁琐。化学发光免疫测定法既具有免疫反应的特异性,又兼有发光效应的高灵敏性,同时没有放射性污染且自动化程度高。孙振亚等^[14]在进行化学发光免疫法与放射免疫法检测血清 PSA 的比较研究时发现,两种方法检测 PSA 差异无统计学意义($P > 0.05$)且相关

性好($r = 0.995$),并显示出化学发光免疫测定法在敏感性、特异性、准确性、精密性、抗干扰等方面均优于放射免疫测定法。而且,试剂易保存、有效期长,克服了放射免疫法试剂受同位素半衰期的影响、有效期短及同位素放射性污染等不足,具有安全、无毒的优点。酶联免疫吸附法常用于视黄醇结合蛋白的测定,此法是以免疫学反应为基础^[15]。王继杰和张剑白^[16]在研究尿视黄醇结合蛋白检测对早期诊断紫癜性肾炎的临床价值时,使用双抗体酶联免疫吸附法成批检测尿 RBP,操作简便。

5 小 结

综上所述,尿 β_2 -MG、 α_1 -MG、Cys C、RBP 在肾小管功能异常早期便发生改变。目前临床上用于监测肾功能的指标既受多种因素影响又在肾功能发生严重损害时才能表现出异常;移植后,肾穿刺活检一直作为了解肾功能的经典指标,创伤性及反复动态检测使其受到限制。尿微量蛋白在肾小管损伤后可以立刻被检测出来,对肾移植患者而言,监测尿微量蛋白能及早发现移植后肾功能异常,为临床治疗争取时间,对延长肾移植患者存活率及提高其生活质量都有重大意义,而且检测方法无创伤,易于被肾移植患者接受,因而监测尿微量蛋白判断移植后肾功能具有广阔的前景。

参考文献

- [1] 林超萍,潘洁茹,吕婉娴.血清胱蛋白酶抑制剂 C 在肾移植中的临床意义[J].实用医技杂志,2008,15(9):115-116.
- [2] Trof RJ, Di-Maggio F, Leemreis J, et al. Biomarkers of acute renal injury and renal failure[J]. Shock, 2006, 26(3): 245-253.
- [3] Andersson L, Haraldsson B, Johansson C, et al. Methodological issues on the use of urinary alpha-1-microglobuline in epidemiological studies[J]. Nephrol Dial Transplant, 2008, 23(4): 1252-1256.
- [4] 代香元,王艳梅.尿液 α_1 -MG 及 β_2 -MG 检测的临床意义[J].中国社区医师:综合版,2008,10(6):80.
- [5] 马雪平,王海燕,王贝晗,等.尿微量蛋白联合检测对移植肾功能恢复的诊断价值[J].中国卫生检验杂志,2008,18(7):1358-2358.
- [6] Chew JS, Saleem M, Florkowski CM, et al. Cystatin C-a paradigm of evidence based laboratory medicine[J]. Clin Biochem Rev, 2008, 29(2): 47-62.
- [7] 冯子君.谈血清胱抑素 C 在肾脏疾病中的诊断价值与应用[J].齐齐哈尔医学院学报,2008,29(14):1754.
- [8] Herget-Rosenthal S, van Wijk JA, Cker-Preuss M, et al. Increased urinary cystatin C reflects structural and functional renal tubular impairment independent of glomerular filtration rate[J]. Clin Biochem, 2007, 40(13/14): 946-951.
- [9] 其木格,孙秀丽. Cystatin C 在肾脏病领域中的应用研究[J].医学研究杂志,2007,36(11):21-23.
- [10] 李定珍.尿微量蛋白检测与肾病早期诊断[J].职业卫生与病伤,2007,22(4):285.
- [11] 陈睿,刘和录.深圳地区早期健康新生儿尿视黄醇结合蛋白水平测定[J].中国儿童保健杂志,2007,15(6):674.
- [12] 罗蓉,李卓成,阎德文.多项尿蛋白检测对早期糖尿病肾病诊断价值的研究[J].检验医学与临床,2008,5(5):271-

272.

[13] 席向红, 杨宝珍, 贾韶彤. 血清视黄醇结合蛋白与 β_2 -微球蛋白联合检测对肾病的诊断意义[J]. 宁夏医学院学报, 2007, 29(2): 187.

[14] 孙振亚, 郑定容, 杨庆殉, 等. 化学发光免疫法与放射免疫法检测血清 PSA 的比较[J]. 中国热带医学, 2007, 7(9): 1660-1661.

[15] 谢国明, 郑军, 赵巧玉. 糖尿病肾病早期标志物检测技术[J]. 分析仪器, 2007, 1: 1-3.

[16] 王继杰, 张剑白. 尿视黄醇结合蛋白检测对早期诊断紫癜性肾炎的临床价值[J]. 中国医药, 2007, 2(5): 265-266.

(收稿日期: 2010-09-01)